



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2018-0094989
(43) 공개일자 2018년08월24일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 31/4184 (2006.01) A61P 25/00 (2006.01)
A61P 29/00 (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61K 31/4184 (2013.01)
A61P 25/00 (2018.01)
(21) 출원번호 10-2018-7020017
(22) 출원일자(국제) 2016년12월09일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2018년07월12일
(86) 국제출원번호 PCT/US2016/065972
(87) 국제공개번호 WO 2017/106050
국제공개일자 2017년06월22일
(30) 우선권주장
62/267,437 2015년12월15일 미국(US)

(71) 출원인
더 보드 오브 트러스티스 오브 더 리랜드 스탠포드 주니어 유니버시티
미합중국 캘리포니아 94305-2038, 스탠포드, 포스트 오피스 박스 20386, 메인 쿼드, 스탠포드 유니버시티, 빌딩 170, 3층 제너럴 카운실
(72) 발명자
느구엔, 코아 딘
미국 캘리포니아주 94306 팔로 알토 엘카미노 레알 1705
앵글레만, 에드가 지.
미국 캘리포니아주 94306 팔로 알토 엘카미노 레알 1705
(74) 대리인
서종완

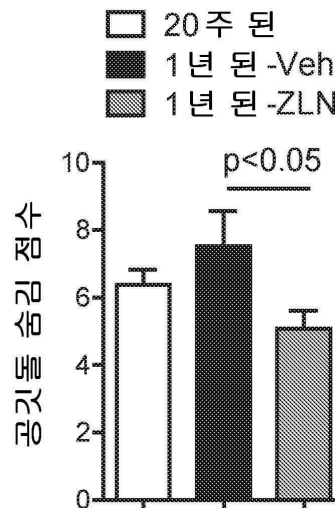
전체 청구항 수 : 총 6 항

(54) 발명의 명칭 노화 관련 인지장애 및 신경염증의 예방 및/또는 치료 방법

(57) 요약

본 발명은 중추 신경계에서의 노화-관련 인지 장애의 예방 및/또는 치료 방법에 관한 것이다. 상기 방법은 상기 예방 및/또는 치료가 필요한 대상에게 Ppargc1a 활성제 2-(4-3급-부틸페닐)-1H-벤즈이미다졸, 2-[4-(1,1-디메틸에틸)페닐]-1H-벤즈이미다졸을 유효량으로 투여함을 포함한다. 바람직한 투여 경로는 경구 투여이다.

대표도 - 도4



(52) CPC특허분류

A61P 29/00 (2018.01)

명세서

청구범위

청구항 1

중추 신경계의 노화-관련 인지장애의 예방 및/또는 치료 방법으로,

상기 예방 및/또는 치료가 필요한 대상(subject)에게 유효량의 2-(4-3급-부틸페닐)-1H-벤즈이미다졸, 2-[4-(1,1-디메틸에틸)페닐]-1H-벤즈이미다졸의 화합물, 또는 그의 약학적으로 허용 가능한 염을 투여하는 단계를 포함하는 방법.

청구항 2

제 1 항에 있어서,

대상의 인지 행동 기능장애를 역전시키거나 경감시키는 방법.

청구항 3

제 1 항에 있어서,

대상의 신경염증 및/또는 전신 염증을 억제시키는 방법.

청구항 4

제 1 항에 있어서,

대상의 뇌에서 미세아교세포의 대사 이상을 억제시키는 방법.

청구항 5

제 1 항에 있어서,

화합물을 전신 투여에 의해 투여하는 방법.

청구항 6

제 1 항에 있어서,

화합물을 경구 투여에 의해 투여하는 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001]

본 발명은 대상(subject)에게 Ppargc1a 활성제 2-(4-3급-부틸페닐)-1H-벤즈이미다졸, 2-[4-(1,1-디메틸에틸)페닐]-1H-벤즈이미다졸을 투여함으로써 노화-관련 인지장애 및 신경염증을 예방 및/또는 치료하는 방법에 관한 것이다.

배경 기술

[0002]

미세아교세포는 오직 CNS에만 위치하는 면역세포이다. 미세아교세포는 배발생 동안 뇌에 거주하는 난황낭 조혈 전구세포로부터 기원한다(Ginhoux et al Science 2009). 항상성 조건 동안, 미세아교세포는 세포찌꺼기 청소와 같은 재생 과정을 수행한다. 상기는 또한, 병적인 자극 수용시 방출되어 신경염증을 개시시키고 지속시키는 염증 매개체의 무기고를 생성시킨다. 다른 면역세포들과 유사하게, 미세아교세포 활성화는 생물에너지학적으로 요구가 많은 과정이다. 현재 여전히 규정하기 힘든 것은 미세아교세포 대사가 어떻게 부적응성으로 되고 상기 세포의 염증성 형질전환에 기여하는 지이다.

[0003] 뇌에서의 염증 반응(이는 염증전 분자의 존재 및 미세아교세포의 성질 변화에 의해 입증될 수 있다)은 인간 신경퇴행성 질병의 공통적인 특징이다(Alzheimer's Res Ther., 7(1):56. doi: 10.1186/s13195-015-0139-9, 2015). 영(Yong)(The Neuroscientist, 16:408-420, 2010)은 중추신경계(CNS)의 염증(신경염증)이 모든 신경학적 질환의 특징이며 미세아교세포 활성화가 상기 CNS내 다수의 염증 매개인자의 상승을 발생시킴을 보고한다.

[0004] 노화는 조직 기능의 점진적인 상실과 관련되며, 이는 노화-관련 질환에 증가된 감수성을 생성시킨다. 생리학적 노화의 결과는 감염, 수술 또는 외상성 뇌 손상과 같은 면역 공격에 따른 기억장애에 대한 보다 큰 감수성이다. 이러한 공격에 의해 생성된 신경염증 반응은, 그렇지 않으면 건강한 노화 뇌에 염증전 사이토킨의 증가되고 지속된 생산을 생성시킨다. 감염된 미세아교세포는 이러한 과장된 신경염증 반응의 주요 근원이며 노화 뇌의 특징인 것으로 보인다. 노화-유발된 미세아교세포 감각화의 원인 및 효과는 신경내분비계의 조절장애, 면역 공격에 따른 신경염증 반응의 강화, 및 기억 장애를 포함한다(Barrientos et al, Neuroscience 309:84-99, 2015). 노화는 인지수행의 감퇴와 관련되며 알츠하이머병(AD)의 발생에 가장 큰 위험 인자이다. 모셔(Mosher) 등(Biochem Pharmacol 88:594-604, 2014)은 뇌 노화 및 알츠하이머병에서 미세아교세포 기능장애를 보고한다. 그럼에도 불구하고, 이들 현상에서 미세아교세포의 내재적인 조절 경로의 역할은 여전히 검토되지 않은 채로 있다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0005] 노인 인구가 급속하게 확대되고 있고 신경염증이 중년(40 내지 60세) 중에 발생하는 장기적인 과정이며 노령(60세 초과)에 따라 가속화되기 때문에, 노화-관련 질환의 치료뿐만 아니라 예방을 위한 신규의 치료학적 표적을 확인하는 것이 중요하다. 미세아교세포-매개된 신경염증 및 노화에서 그의 병적인 결과를 억제하는 치료법이 필요하다.

도면의 간단한 설명

[0006] 도 1 내지 4에서, Veh = 0.5% 메틸셀룰로스 경구 위관영양, ZLN = Veh 중 ZLN005.

도 1은 어린 동물, 비히클-처리된 나이든 동물 또는 ZLN-처리된 나이든 동물에서 글루코스 수송체 Slc2a1을 발현하거나 또는 글루코스 형광 유사체 2-NBDG를 수용한 미세아교세포 (microglia)의 %를 도시한다; 조건당 동물 n=6.

도 2는 어린 동물, 비히클-처리된 나이든 동물 또는 ZLN-처리된 나이든 동물에서 CCL2 또는 TNF- α 를 발현하는 미세아교세포의 %를 도시한다; 조건당 동물 n=6.

도 3은 어린 동물, 비히클-처리된 나이든 동물 또는 ZLN-처리된 나이든 동물의 혈청 중 TNF- α 의 농도를 도시한다; 조건당 동물 n=6.

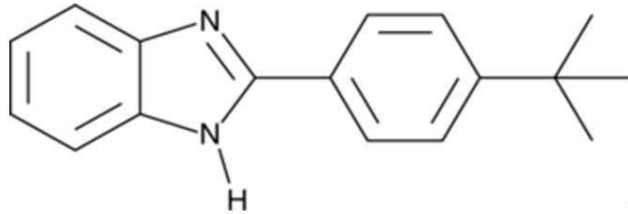
도 4는 어린 동물, 비히클-처리된 나이든 동물 또는 ZLN-처리된 나이든 동물에서 공깃돌 숨김 점수(marble burying score)를 도시한다; 조건당 동물 n=8-9.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0007] 발명자들은 미세아교세포를 포함한 다수의 세포 유형에서 세포 대사의 다면발현성 조절인자, Ppargc1a가 노화-관련된 신경병성 질환의 중요한 조절인자임을 발견하였다. 발명자들은 미세아교세포에서의 Ppargc1 활성화와, 완전 유기체의 인지 및 운동 기능에 대한 그의 효과간의 관련성을 발견하였다. 발명자들은 ZLN005와 같은 화합물에 의한 Ppargc1a 활성화가 나이든 동물에서 미세아교세포 기능장애를 개선시키고 인지수행을 개선시킴을 발견하였다.

[0008] 본 발명은 연령-관련된 인지장애 또는 신경염증의 예방 또는 치료 방법에 관한 것이다. 상기 방법은 상기 예방 또는 치료가 필요한 대상 (subject)에게 노화-관련 증상의 발생을 예방하거나, 억제시키거나 또는 역전시키기에 유효한 양으로 Ppargc1a 활성제를 투여하는 단계를 포함한다. 본 명세서에 사용되는 바와 같은 "예방"은 연령-관련된 인지장애 또는 신경염증의 진행을 억제시키거나 늦춤을 지칭한다. 본 명세서에 사용되는 바와 같은 "치료"는 연령-관련된 인지 기능장애 또는 신경염증을 역전시키거나, 개선시키거나 또는 감소시킴을 지칭한다. 상기 대상은 노화 중인 대상(45 내지 60세) 또는 노인인 대상(60세 초과)이다.

[0009] 2-(4-3급-부틸페닐)-1H-벤즈이미다졸, 2-[4-(1,1-디메틸에틸)페닐]-1H-벤즈이미다졸, CAS 번호 49671-76-3(또한 ZLN005로서 공지됨)은 노화의 치료에 유용한 유효 Ppargc1a 활성제이다. ZLN005의 화학 구조를 하기에 도시한다:



[0010]

[0011] 발명자들은 나이든 마우스에서 미세아교세포가 그의 에너지 기질로서 글루코스의 증가된 이용 및 글루코스 수송체 Slc2a1의 상향조절에 의해 입증된 바와 같이, 보다 해당작용성임을 입증하였다. 상기 나이든 동물을 ZLN005로 처리한 결과 미세아교세포에서의 Slc2a1 발현뿐만 아니라 글루코스 흡수의 현저한 억제이 유도되었다.

[0012] 발명자들은 나이든 마우스에서 미세아교세포는 CCL2 및 TNF- α 생산의 현저한 증가에 의해 입증된 바와 같이, 염증성 표현형을 나타냄을 입증하였다. 종양 괴사 인자(TNF 또는 TNF α)는 국소 및 전신 염증에 관련된 세포 신호전달 단백질(사이토킨)이며 급성기 반응을 구성하는 사이토킨들 중 하나이다. 케모킨(C-C 동기) 리간드 2(CCL2)는 작은 사이토킨으로, 단핵세포, 기억 T 세포, 및 수지상 세포를 조직 손상이나 감염에 의해 생성된 염증 부위로 모집한다. ZLN005를 나이든 동물에게 투여함으로써, 미세아교세포 중 CCL2 및 TNF- α 생산이 감소되었으며 신경염증이 억제되었다. 또한, ZLN005 처리는 혈청 TNF- α 수준에 대한 그의 억제 효과에 의해 입증된 바와 같이, 나이든 마우스에서 전신 염증을 억제시켰다.

[0013] 발명자들은 공깃돌-숨김 시험(상기는 인지 역량을 평가하는 기능 분석이다)에서, ZLN005 처리가 나이든 마우스에서 행동 기능장애, 즉 인지 기능장애를 감소시키거나 역전시킨다는 증거를 제공하였다.

[0014] 약학 조성물

[0015] 본 발명은 하나 이상의 약학적으로 허용 가능한 담체 및 2-(4-3급-부틸페닐)-1H-벤즈이미다졸, 2-[4-(1,1-디메틸에틸)페닐]-1H-벤즈이미다졸(ZLN005)의 활성 화합물 또는 그의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물을 포함하는 약학 조성물을 제공한다. 상기 약학 조성물 중의 활성 화합물 또는 그의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물은 일반적으로 국소 제형의 경우 약 0.01 내지 20%(w/w), 주사성 제형의 경우 약 0.1 내지 5%, 패치 제형의 경우 0.1 내지 5%, 정제 제형의 경우 약 1 내지 90%, 및 캡슐 제형의 경우 1 내지 100%의 양으로 존재한다.

[0016] 하나의 실시태양에서, 상기 약학 조성물은 정제, 캡슐, 과립, 미세 과립, 분말, 시럽, 좌약, 주사성 용액, 패치 등과 같은 투여형 중에 존재할 수 있다. 또 다른 실시태양에서, 상기 약학 조성물은 상기 활성 화합물을 포함하는 호흡가능 입자의 에어로졸 현탁액일 수 있으며, 이를 대상이 흡입한다. 상기 호흡가능 입자는 액체 또는 고체일 수 있으며, 이때 입자 크기는 흡입시 입과 후두를 통과하기에 충분히 작다. 일반적으로, 약 1 내지 10 마이크론, 바람직하게는 1 내지 5 마이크론의 크기를 갖는 입자가 호흡가능한 것으로 간주된다.

[0017] 또 다른 실시태양에서, 상기 활성 화합물을, 상기 화합물을 안정화시키고 이를 국소 적용에 의해 병든 부위로 전달할 수 있는 임의의 허용 가능한 담체, 예를 들어 크림, 젤, 로션 또는 다른 유형의 현탁액에 통합시킬 수 있다. 상기 약학 조성물을 통상적인 방법에 의해 제조할 수 있다.

[0018] 불활성 성분인 약학적으로 허용 가능한 담체는 통상적인 기준을 사용하여 당해 분야의 숙련가에 의해 선택될 수 있다. 약학적으로 허용 가능한 담체는 비제한적으로 비수성 용액, 현탁액, 유화액, 미세유화액, 미셀 용액, 젤 및 연고를 포함한다. 상기 약학적으로 허용 가능한 담체는 비제한적으로 염수 및 수성 전해질 용액; 이온성 및 비이온성 삼투제, 예를 들어 염화 나트륨, 염화 칼륨, 글리세롤 및 텍스트로스; pH 조절제 및 완충제, 예를 들어 하이드록사이드, 포스페이트, 시트레이트, 아세테이트, 보레이트의 염; 및 트롤라민; 산화방지제, 예를 들어 비설파이트, 설파이트, 메타비설파이트, 티오설파이트, 아스코르브산, 아세틸 시스테인, 시스테인, 글루타치온, 부틸화된 하이드록시아니솔, 부틸화된 하이드록시톨루엔, 토코페롤, 및 아스코르빌 팔미테이트의 염, 산 및/또는 염기; 계면활성제, 예를 들어 레시틴, 인지질, 예를 들어 비제한적으로 포스파티딜콜린, 포스파티딜에탄올아민 및 포스파티딜 이노시톨; 폴록사머 및 폴록사민, 폴리소르베이트, 예를 들어 폴리소르베이트 80, 폴리소르베이트 60, 및 폴리소르베이트 20, 폴리에테르, 예를 들어 폴리에틸렌 글리콜 및 폴리프로필렌 글리콜; 폴리비닐,

예를 들어 폴리비닐 알콜 및 포비돈; 셀룰로스 유도체, 예를 들어 메틸셀룰로스, 하이드록시프로필 셀룰로스, 하이드록시에틸 셀룰로스, 카복시메틸 셀룰로스 및 하이드록시프로필 메틸셀룰로스 및 이들의 염; 석유 유도체, 예를 들어 광물성 오일 및 백색 바셀린; 지방, 예를 들어 라놀린, 땅콩유, 팜유, 대두유; 모노-, 디- 및 트리글리세라이드; 아크릴산의 중합체, 예를 들어 카복시폴리메틸렌 젤, 및 소수성 방식으로 변형된 가교결합된 아크릴레이트 공중합체; 폴리스카라이드, 예를 들어 텍스트란 및 글리코스아미노글리칸, 예를 들어 나트륨 히아루로네이트를 포함하는 성분들을 또한 함유할 수 있다. 상기와 같은 약학적으로 허용 가능한 담체를 주지된 보존제를 사용하여 세균 오염에 대해 보존하거나(상기 보존제는 비제한적으로 벤즈알코늄 클로라이드, 에틸렌디아민테트라아세트산 및 그의 염, 벤즈에토늄 클로라이드, 클로르헥시딘, 클로로부탄올, 메틸파라벤, 티메로살, 및 페닐에틸 알콜을 포함한다), 또는 단일 또는 수회 사용을 위해 비-보존 제형으로서 제형화할 수도 있다.

[0019] 예를 들어, 상기 활성 화합물의 정제 제형 또는 캡슐 제형은, 생물활성이 없고 상기 활성 화합물과 반응하지 않는 다른 부형제들을 함유할 수도 있다. 정제 또는 캡슐의 부형제는 충전제, 결합제, 윤활제 및 활주제, 봉해제, 습윤제, 및 방출속도 조절제를 포함할 수 있다. 결합제는 상기 제형 입자들의 부착을 촉진하며 정제 제형에 중요하다. 정제 또는 캡슐의 부형제의 예로는 비제한적으로 카복시메틸셀룰로스, 셀룰로스, 에틸셀룰로스, 하이드록시프로필메틸셀룰로스, 메틸셀룰로스, 카라야검, 전분, 트라가칸트검, 젤라틴, 마그네슘 스테아레이트, 이산화 티타늄, 폴리(아크릴산), 및 폴리비닐피롤리돈이 있다. 예를 들어, 정제 제형은 불활성 성분, 예를 들어 콜로이드성 이산화 규소, 크로스포비돈, 하이프로멜로스, 마그네슘 스테아레이트, 미정질 셀룰로스, 폴리에틸렌 글리콜, 나트륨 전분 글리콜레이트, 및/또는 이산화 티타늄을 함유할 수 있다. 캡슐 제형은 불활성 성분, 예를 들어 젤라틴, 마그네슘 스테아레이트, 및/또는 이산화 티타늄을 함유할 수 있다.

[0020] 예를 들어, 상기 활성 화합물의 패치 제형은 일부 불활성 성분, 예를 들어 1,3-부틸렌 글리콜, 디하이드록시알루미늄 아미노아세테이트, 이나트륨 에데테이트, D-솔비톨, 젤라틴, 카올린, 메틸파라벤, 폴리소르베이트 80, 포비돈, 프로필렌 글리콜, 프로필파라벤, 나트륨 카복시메틸셀룰로스, 나트륨 폴리아크릴레이트, 타타르산, 이산화 티타늄, 및 정제수를 포함할 수 있다. 패치 제형은 피부 침투성 향상제, 예를 들어 락테이트 에스테르(예를 들어 라우릴 락테이트) 또는 디에틸렌 글리콜 모노에틸 에테르를 또한 함유할 수 있다.

[0021] 상기 활성 화합물을 포함하는 국소 제형은 젤, 크림, 로션, 액체, 유화액, 연고, 스프레이, 용액 및 현탁액의 형태로 존재할 수 있다. 상기 국소 제형 중의 불활성 성분은 예를 들어 비제한적으로 디에틸렌 글리콜 모노에틸 에테르(완화제/침투 향상제), DMSO(용해도 향상제), 실리콘 탄성중합체(유동성/질감 조절제), 카프릴릭/카프릭 트리글리세라이드, (완화제), 옥티살레이트, (완화제/UV 필터), 실리콘액(완화제/희석제), 스쿠알렌(완화제), 해바라기유(완화제), 및 이산화 규소(중점제)를 포함한다.

[0022] 사용 방법

[0023] 본 발명은 노화-관련 인지장애 및/또는 신경염증의 예방 및/또는 치료 방법에 관한 것이다. 상기 방법은 노화-관련 인지장애 및 중추 신경계의 신경염증을 예방하고/하거나 일단 발생하였으면 이들 증상을 감소시키거나 역전시킨다. 상기 방법은 먼저 상기 예방 및/또는 치료가 필요한 대상을 식별하고, 상기 대상에게 상기 ZLN005의 활성 화합물을 노화-관련 증상의 치료에 유효한 양으로 투여하는 단계들을 포함한다. 본 명세서에 사용되는 바와 같은 "유효량"은 증상을 감소시킴으로써 노화-관련된 상태를 치료하기에 유효한 양이다.

[0024] 하나의 실시태양에서, 상기 방법은 나이든 또는 노화 중인 환자에서 행동 기능장애를 역전시키거나 감소시킨다. 하나의 실시태양에서, 상기 방법은 상기 대상의 신경염증뿐만 아니라 전신 염증을 억제시킨다. 하나의 실시태양에서, 상기 방법은 상기 대상의 뇌에서 미세아교세포의 대사 이상을 억제시킨다.

[0025] 본 발명의 약학 조성물을 국소 투여 및 전신 투여에 의해 적용할 수 있다. 국소 투여는 국부 투여를 포함한다. 전신 투여는 비제한적으로 경구, 비경구(예를 들어 정맥내, 근육내, 피하 또는 직장), 및 흡입 투여를 포함한다. 전신 투여에 의해, 상기 활성 화합물이 먼저 혈장에 도달하고 이어서 표적 조직으로 분배된다. 경구 투여가 본 발명의 투여에 바람직한 경로이다.

[0026] 상기 조성물의 복용은 손상의 정도 및 각 환자의 개별적인 반응을 기준으로 변할 수 있다. 전신 투여의 경우, 상기 전달되는 활성 화합물의 혈장 농도는 변할 수는 있지만; 일반적으로 1×10^{-10} 내지 1×10^{-4} 몰/리터, 및 바람직하게는 1×10^{-8} 내지 1×10^{-5} 몰/리터이다.

[0027] 하나의 실시태양에서, 상기 약학 조성물을 상기 대상에게 경구로 투여한다. 상기 경구 투여용 투여량은 일반적으로 1 내지 100, 및 바람직하게는 1 내지 50, 또는 1 내지 25 mg/kg/일이다. 예를 들어, 상기 활성 화합물을

환자의 조건 및 체중에 따라, 성인 인간에게 50 내지 1000 mg/투여량 또는 100 내지 600 mg/투여량으로, 하루에 1 내지 4회 경구로 적용할 수 있다.

- [0028] 하나의 실시태양에서, 상기 약학 조성물을 상기 대상에게 피하로 투여한다. 피하 투여용 투여량은 일반적으로 0.3 내지 20, 및 바람직하게는 0.3 내지 3 mg/kg/일이다.
- [0029] 하나의 실시태양에서, 상기 조성물을 병든 부위에 국소로 적용하고 이를 문지른다. 상기 조성물을 의학적 문제 및 질병 병리학에 따라, 하루에 적어도 1 또는 2회, 또는 하루에 3 또는 4회 국소로 적용한다. 일반적으로, 상기 국소 조성물은 약 0.01 내지 20%, 또는 0.05 내지 20%, 또는 0.1 내지 20%, 또는 0.2 내지 15%, 0.5 내지 10, 또는 1 내지 5%(w/w)의 상기 활성 화합물을 포함한다. 전형적으로 용량당 0.2 내지 10 ml의 상기 국소 조성물을 상기 개인에게 적용한다. 상기 활성 화합물은 피부를 통과하여 불편한 부위로 전달된다.
- [0030] 당해 분야의 숙련가들은 광범위하게 다양한 전달 기전이 본 발명에 또한 적합함을 알 것이다.
- [0031] 본 발명은 포유동물 대상(subject), 예를 들어 인간, 말, 개 및 고양이의 치료에 유용하다. 본 발명은 인간의 치료에 특히 유용하다.
- [0032] 하기의 실시예들은 본 발명을 추가로 예시한다. 이들 실시예는 단지 본 발명을 예시하고자 하는 것이며 제한인 것으로 해석해서는 안 된다.
- [0033] 실시예
- [0034] 모든 동물 연구를 스탠포드 대학의 APLAC에 의해 승인된 프로토콜하에서 수행하였다. C57BL6 배경의 나이든 및 어린 동물을 타코닉(Taconic)으로부터 구입하였다. 나이든 동물은, 마우스에서 생리학적인 노화 과정이 가속화하는 때인 36주령을 초과하는 동물로서 한정되는 반면, 어린 상대 동물은 20주령이다. 데이터를 평균±SEM으로서 나타낸다. 양측 스튜던츠 t-검정 및 이원 ANOVA를 통계분석에 사용하였다. <0.05의 p 값이 통계학적 유의수준으로 간주된다.
- [0035] 실시예 1. Ppargc1a 활성제 ZLN005는 나이든 마우스에서 미세아교세포의 대사 기능장애를 억제시킨다
- [0036] 나이든 동물을 37주령에 시작하여, 15주 동안 1주일에 3회, 0.5% 메틸셀룰로스(비히클) 또는 비히클 중의 25 mg/kg의 ZLN005(시그마(Sigma))로 경구 처리하였다. 처리된 나이든 동물(n=6), 처리되지 않은 나이든 동물(n=6) 및 어린 동물(20주된 것, n=6)을 약물 처리후 죽이고 그들의 뇌 조직을 수집하였다. 상기 죽은 동물의 PBS-관류된 뇌 조직을 콜라게나제 I로 절단하고 유식 세포추정을 진행하였다(Ginhoux et al Science, 330:841-5, 2010). 뇌 미세아교세포를 유식 세포추정 획득(LSR II, BD) 및 분석(FlowJo)을 위해 2-NBDG (2-(N-(7-니트로벤즈-2-옥사-1,3-디아졸-4-일)아미노)-2-데옥시글루코스, 인비트로젠(Invitrogen)) 및 항-Slc2a1 항체(RnD)로 표현형 분류하였다.
- [0037] 상기 결과를 도 1에 요약하며; Y-축은 글루코스 수송체 Slc2a1을 발현하거나 또는 글루코스 형광 유사체 2-NBDG를 수용한 미세아교세포의 %를 나타낸다. ANOVA를 통계분석에 사용하였다. 상기 결과는 나이든 마우스에서 미세아교세포는 어린 마우스와 비교시, 비히클 처리된 나이든 동물에서 Slc2a1 발현뿐만 아니라 2-NBDG 흡수의 현저한 증가에 의해 입증된 바와 같이, 해당작용 활성화 표현형을 나타내었음을 보인다(p-값 < 0.01). 상기 결과는 또한 나이든 동물에게 ZLN005를 투여함으로써, 상기 처리된 동물의 미세아교세포에서의 Slc2a1 발현 및 글루코스 흡수가 감소하였고, 따라서 이들의 대사 기능장애가 경감되었음을 보인다. (p-값 < 0.05).
- [0038] 실시예 2. Ppargc1a 활성제 ZLN005는 나이든 마우스의 미세아교세포에서 염증성 사이토킨 생산을 억제시킨다
- [0039] 나이든 동물을 37주령에 시작하여, 15주 동안 1주일에 3회, 0.5% 메틸셀룰로스(비히클) 또는 비히클 중의 25 mg/kg의 ZLN005(시그마)로 경구 처리하였다. 처리된 나이든 동물(n=6), 처리되지 않은 나이든 동물(n=6) 및 어린 동물(n=6)을 약물 처리후 죽이고 그들의 뇌 조직을 수집하였다. 상기 죽은 동물의 PBS-관류된 뇌 조직을 콜라게나제 I로 절단하고 유식 세포추정을 진행하였다(Ginhoux et al Science, 330:841-5, 2010). 뇌 미세아교세포를 유식 세포추정 획득(LSR II, BD) 및 분석(FlowJo)을 위해 CCL2 및 TNF-α에 대한 플루오로코롬-표지된 항체(바이오레전드(Biolegend))로 표현형 분류하였다.
- [0040] 상기 결과를 도 2에 요약하며; Y-축은 CCL2 또는 TNF-α를 발현하는 미세아교세포의 %를 나타낸다. ANOVA를 통계분석에 사용하였다. 상기 결과는 나이든 마우스에서 미세아교세포는 어린 마우스와 비교시, 비히클 처리된 나이든 동물에서 CCL2 및 TNF-α 생산의 현저한 증가에 의해 입증된 바와 같이, 염증 표현형을 나타내었음을 보인다. 상기 결과는 또한 나이든 동물에게 ZLN005를 투여함으로써, 상기 처리된, 나이든 동물의 미세아교세포에

서의 CCL2 및 TNF- α 생산이 감소하였고, 따라서 신경염증이 억제되었음을 보인다(p-값 TNF- α 의 경우 < 0.05 및 CCL2의 경우 <0.01).

[0041] 실시예 3. Ppargc1a 활성제 ZLN005는 나이든 마우스에서 전신 염증을 억제시킨다

[0042] 어린 마우스, 비히클-처리된 나이든 마우스, 및 ZLN-처리된 나이든 마우스의 혈청 중 TNF- α 수준(실시예 2로부터)을 ELISA에 의해 측정하여 전신 염증을 암시하는 TNF- α 수준을 측정하였다. 상기 결과를 도 3에 요약하며; Y-축은 혈청 중 TNF- α 의 농도를 나타낸다. 상기 결과는 나이든 동물에게 ZLN005를 투여함으로써, 상기 처리된 나이든 동물의 혈청 중 TNF- α 수준이, 비히클-처리된 나이든 동물과 비교하여 감소하였고 따라서 전신 염증이 억제되었음을 보인다(p-값 < 0.05). 독립표본 t-검정을 통계분석에 사용하였다.

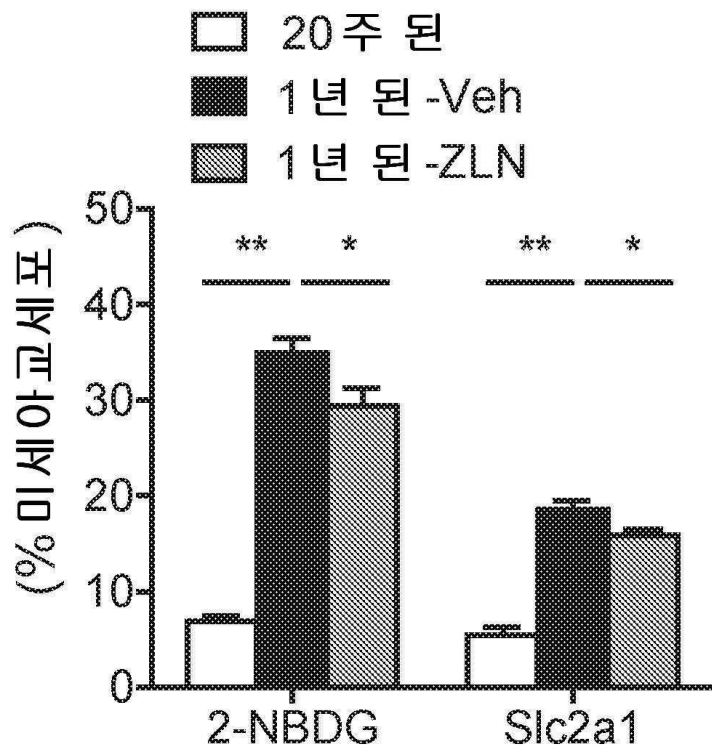
[0043] 실시예 4. Ppargc1a 활성제 ZLN005는 나이든 마우스에서 행동 기능장애를 경감시킨다

[0044] 동물들을 37주령에 시작하여, 15주 동안 1주일에 3회, 0.5% 메틸셀룰로스(비히클) 또는 비히클 중의 25 mg/kg의 ZLN005(시그마)로 경구 처리하였다. 52주령제에, 상기 나이든 동물들에 대해 공깃돌 숨김 분석(불안증의 행동 시험)(Dekeyne A, Therapie, 60:477-84, 2005)을 수행하였다. 각각의 동물에게 개별 우리에서 깔짚 상단에 12개의 공깃돌을 제공하고 30분 동안 상기 우리에서 자유롭게 달리게 두었다. 상기 기간 후에, 각각의 파묻힌 공깃돌에, 그의 묻힌 정도에 따라 개별적으로 번호를 할당하고(1 = 90 내지 100% 숨겨진, 0.75 = 60 내지 90% 숨겨진, 0.5 = 30 내지 60% 숨겨진, 0 = 30% 미만으로 숨겨진), 이어서 각각의 마우스에 의해 파묻힌 12개 공깃돌의 숫자들의 합을 상기 마우스의 공깃돌 숨김 점수로서 계산한다. 상기 동물이 획득한 점수가 높을수록, 상기 동물이 나타내는 불안증 지수가 높다. 도 4의 결과는 비히클로 처리된 나이든 마우스가 ZLN005로 처리된 마우스보다 더 높은 평균 점수를 가졌음을 나타내며(p-값 < 0.05), 이는 ZLN005가 나이든 마우스에서 불안증 표현형을 감소시켰고 행동 기능장애를 교정했음을 암시한다(그룹당 마우스 n=8-9). 독립표본 t-검정을 통계분석에 사용하였다.

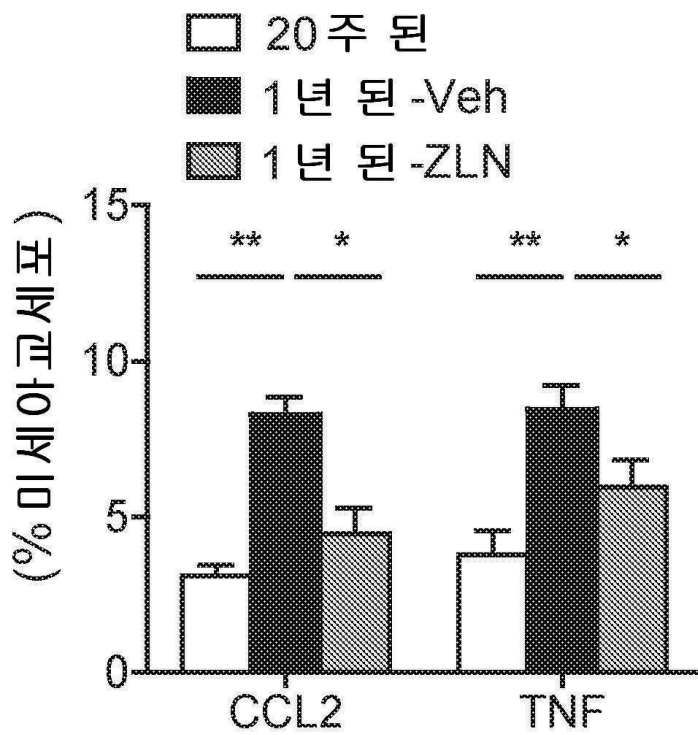
[0045] 이제 본 발명, 및 그의 제조 및 사용 방식 및 과정을, 본 발명이 속하는 분야의 임의의 숙련가가 상기 발명을 제조 및 사용할 수 있게 하기 위해서 상기과 같이 충분하고, 명확하고, 간결하고 정확한 용어로 기재한다. 상기가 본 발명의 바람직한 실시태양을 기재하며 특허청구범위에 제시된 바와 같은 본 발명의 범위로부터 이탈됨 없이 상기 중에서 변형을 수행할 수 있음은 물론이다. 본 발명으로서 간주되는 발명의 요지를 특별히 지적하고 명백하게 청구하기 위해서, 하기의 특허청구범위로 본 명세서를 마친다.

도면

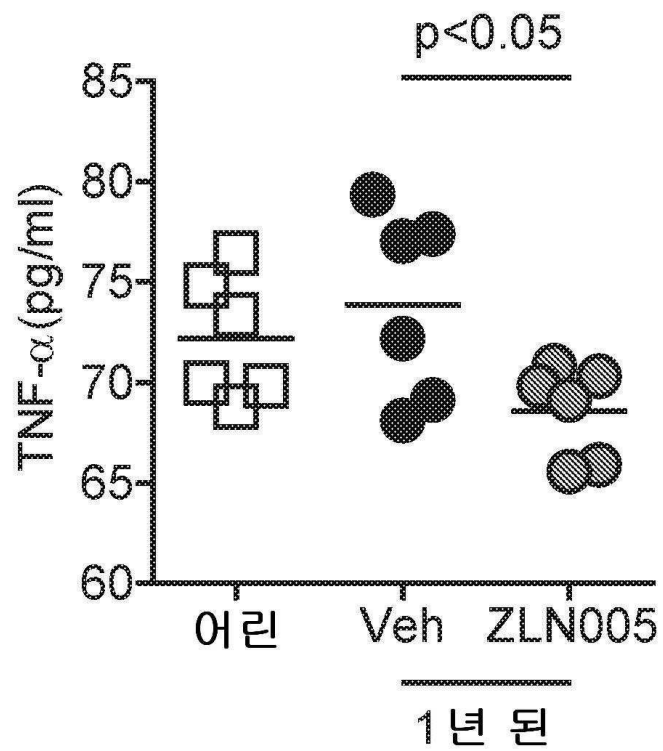
도면1



도면2



도면3



도면4

